

Раздел IV ПЛАНИРОВАНИЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Наука — это в лучшем случае здравый смысл — строго точный в наблюдении и милосердный к ошибкам в логике.

Т.Гексли

Глава 15 ПРИСТРАСТНОСТЬ, РЕПРЕЗЕНТАТИВНОСТЬ И КОМБИНАТОРИКА ВЫБОРКИ

Итак, предположим, что на основании вышеизложенного уже сформулированы цели, определены методы исследования и оптимальные животные. Каковы же дальнейшие шаги на пути к получению конкретных результатов экспериментов и биологическому моделированию? Естественным продолжением этого процесса является, конечно же, *планирование экспериментов* с лабораторными животными и *оценка их результатов*.

Процесс планирования экспериментов может быть различным по объему, поскольку зависит от конечной цели, которую ставит перед собой исследователь. Испытания новых хирургических технологий представляют собой наиболее простую форму экспериментов, так как они могут проводиться с использованием лишь одного животного. Их противоположностью являются многосторонние эксперименты, в ходе которых исследуются тысячи животных, получивших составляющие апробируемой субстанции в различных дозах и при разных условиях.

Использование *статистики* в первоначальном процессе планирования всех экспериментов, за исключением простейших, имеет большое значение, так как позволяет не только избежать ошибок, но и повысить шансы успешного проведения исследования. Ведь в конечном итоге мы осознанно или нецеленаправленно осуществляем это в целях биомоделирования.

Исследователь должен *четко сформулировать вопросы*, на которые он надеется ответить в ходе эксперимента. Если для эксперимента используются животные, важно, чтобы поставленные вопросы имели значимость, новизну и прикладное значение. Недобросовестное планирование эксперимента может привести к расточительному использованию жизней животных, что является недопустимым. При планировании экспериментов с участием животных протокол должен составляться в письменной форме и содержать информацию о цели исследования, поставленных вопросах, проверяемых гипотезах и о предполагаемом практическом и научном значении результатов для прототипа модели, в нашем случае — человека. Важно также обеспечить использование возможно лучших методик и технологий.

Высококачественные животные, хорошее оборудование и тщательный статистический анализ *не смогут исправить упущения*, возникшие в результате плохого планирования. Необходимо также минимизировать последствия использования участниками любого качественного исследования или проекта различных методик в ходе проведения эксперимента. Все эти факторы должны быть изучены и включены в протокол, а в дальнейшем представлены в виде биологической модели. Другие факторы, такие, как вид и категория животных для эксперимента, также должны быть учтены на стадии планирования. Например, в случае, когда требуется минимизировать различия между животными, в протокол вносится положение об использовании исключительно инбредных линий. Для целей других экспериментов могут, напротив, понадобиться гетерогенные животные.

Для того чтобы сделать правильный выбор, исследователь должен обладать высоким уровнем знаний о различных факторах, влияющих на эксперимент. Вид клеточного оборудования и такой на первый взгляд незначительный фактор, как его размещение, должны учитываться, поскольку может потребоваться его разнообразить. Например, размещение всех клеток с тестируемой группой животных на верхних стеллажах может привести к неожиданным результатам, если степень освещения повлияет на ход эксперимента. Исследования должны планироваться таким образом, чтобы *исключить все переменные*, кроме тех, которые необходимы для эксперимента. Например, количество, качество и разнообразие корма является важной переменной, которую часто недооценивают. Квалифицированный учет всех *необходимых факторов и отбор значимых параметров* составляют основу планирования экспериментов.

Область математики, в которой изучаются вопросы о том, сколько различных комбинаций, подчиненных тем или иным условиям, можно составить из заданных объектов, называется *комбинаторикой*. Теоретическое исследование вопросов комбинаторики предприняли в XVII веке французские ученые Паскаль и Ферма. Дальнейшее развитие комбинаторики определило её место в биомоделировании.

Предположим, в каждую серию экспериментов нами взято по 8 животных. Нам необходимо получить независимый, т.е. непристрастный ответ через каждый час эксперимента, продолжающегося в течение 4 часов, хотя бы от одного животного. Сколькими способами мы можем этого достигнуть?

Рассмотрим эту задачу в общем виде. Пусть даны предметы или эивотные, относящиеся к n различным видам. Из них составляют всевозможные расстановки по k предметов в каждой, или, как будем в дальнейшем кратко говорить, *k-расстановки.* При этом в расстановки могут входить и предметы одного вида, а две расстановки считаются различными, если они отличаются друг от друга или видом входящих в них предметов, или порядком этих предметов.

Расстановки описанного типа называются *k-размещениями с повторениями из элементов n видов,* а число всех таких расстановок обозначают $\overline{A}_n^k$.

Итак, мы хотим доказать, что число k-размещений с повторениями из элементов n видов равно

$$\overline{A}_n^k = n^k \ . \tag{49}$$

Доказательство проводится с помощью математической индукции по k — числу элементов в размещении при фиксированном значении n. При $k = 1$ ответ ясен — каждое размещение (с повторениями) состоит только из одного элемента, и разные размещения получаются, если брать элементы различных видов. Но так как число видов равно n, то и число размещений равно n. Итак, $\overline{A}_n^1 = n$ в соответствии с формулой (49).

Предположим теперь, что уже доказано равенство $\overline{A}_n^{k-1} = n^{k-1}$, и рассмотрим k-размещения с повторениями. Все такие размещения можно получить следующим образом. Возьмем любое (k—1)-размещение (с повторениями) (a_1, ..., a_{k-1}) и припишем к нему элемент a_k одного из имеющихся n видов. Мы получим некоторое k-размещение (a_1, ..., a_{k-1}, a_k). При этом ясно, что из каждого (k—1)-размещения получится столько k-размещений, сколько есть различных видов элементов, то есть n размещений. Очевидно, что, действуя описанным образом, мы не пропустим ни одного k-размещения и ни одного не получим дважды, если $(a_1, ..., a_{k-1}) \neq (b_1, ..., b_{k-1})$, или, если $a_k \neq b_k$, то $(a_1, ..., a_{k-1}, a_k) \neq (b_1, ..., b_{k-1}, b_k)$. Поэтому число k-размещений с повторениями из элементов n видов в n раз больше, чем число (k—1)-размещений с повторениями из элементов тех же видов. Таким образом, $\overline{A}_n^k = n\overline{A}_n^{k-1}$. Но мы считаем уже доказанным, что $\overline{A}_n^{k-1} = n^{k-1}$, поэтому

$$\overline{A}_n^k = n \cdot n^{k-1} = n^k \ . \tag{50}$$

Тем самым равенство (49) доказано для всех значений k. Формула (49) встречается в целом ряде решений биомоделирования. Мы рассмотрим теперь решение поставленной выше задачи. Восемь животных могут распределиться между четырьмя одночасовыми отрезками 4^8 способами, из них

в 3^8 случаях — на любом одночасовом отрезке, 2^8 — на двухчасовых отрезках, и в одном случае на трехчасовых отрезках не будет участвовать ни одно животное. По принципу включений и исключений получаем ответ $4^8 - 4 \times 3^8 + 6 - 4 = 40\,824$ варианта. Иными словами, всего лишь для 8 животных, взятых в эксперимент с четырьмя выборками, мы имеем около 41 тысячи возможных комбинаций. А возможно ли эту задачку упростить? Да, возможно, если мы перейдем в иную систему счисления

Наряду с десятичной системой счисления применяются и другие — двоичная, троичная, восьмеричная и т. д. В n-ичной системе счисления используются n цифр. Подсчитаем, сколько в n-ичной системе натуральных чисел, записываемых ровно k знаками. Если допустить записи, начинающиеся с нуля, то каждое k-значное число в n-ичной системе счисления можно рассматривать как размещение с повторениями, составленное из k цифр, причем цифры бывают n видов. По формуле (49) получаем, что количество чисел, имеющих такую запись, равно n^k.

Но для натуральных чисел не применяют записей, начинающихся с нуля. Поэтому из полученного значения n^k надо вычесть количество чисел, n-ичная запись которых начинается с нуля. Если отбросить у этих чисел первую цифру — нуль, то получим (k—1)-значное число (быть может, также начинающееся с нуля). Таких чисел по формуле (49) будет n^{k-1}.

Значит, общее количество k-значных чисел в n-ичной системе счисления равно:

$$n^k - n^{k-1} = n^{k-1} \times (n - 1). \qquad (51)$$

Например, в десятичной системе счисления имеем $10^3 \times 9 = 9000$ четырехзначных чисел; из 10 000 чисел от 0 до 9999 надо отбросить тысячу чисел, а именно числа от 0 до 999.

Полученную нами формулу можно вывести и иным способом. Ведь в k-значном числе, записанном по n-ичной системе счисления, первой цифрой может быть любая из цифр 1, 2, ..., $n-1$, а второй и последующими — любые из цифр 0, 1, 2, ..., n—1. В эксперименте с 8 животными их комбинаторика распределится следующим образом: на первый час у нас n—1 животное, а на остальные $k-1$ часов — по n кандидатов. Отсюда легко получаем, что искомых чисел может быть $(n - 1)\, n^{k-1}$.

Рассмотрим ещё один пример. Например, необходимо получить гибриды F_1, т. е. первое поколение животных, полученных от скрещивания двух инбредных линий. Для этих целей отобраны 5 самок и 3 самца. Необходимо разбить их на две группы по 4 особи, чтобы в каждой было хотя бы по одному самцу. Если в первой линии один самец, а в другой – два, то самцов можно разбить на группу 3 самок из 5. Это можно сделать $C^3_5 = 10$ способами. Всего по правилу произведения получаем $3 \times 10 = 30$ способов разбивки на группы. Это уже более реально.

Применение методов математической статистики к обработке наблюдений основано на глубокой аналогии между производством наблюдений и отбором из некоторой генеральной совокупности. При этом в качестве генеральной совокупности рассматривается чисто гипотетическая совокупность всех возможных результатов наблюдений при данном комплексе условий испытания. *Отбор данных* из этой совокупности производится в процессе наблюдений независимо от нашей воли. Благодаря этому основным фактором отбора наблюдений всегда является случайность, что и позволяет применять для обработки наблюдений основные положения теории вероятностей.

Отбор данных, происходящий помимо нашей воли, можно назвать *естественным отбором;* именно таким является отбор данных при наблюдениях. Однако при производстве наблюдений и при дальнейшей их обработке часто возникает необходимость и в других, *искусственных способах отбора*. Например, при анализе субстанций приходится делать пробы из разных партий, чтобы нейтрализовать возможную неоднородность материала; отбор проб при этом находится целиком в нашем распоряжении. Во время контроля за производством лекарств приходится выбирать образцы из общей продукции. При различных клинических и демографических исследованиях также нужен предварительный отбор объектов для изучения. Примеры таких случаев, когда исследователь вынужден делать сознательный выбор, можно еще долго продолжать. Отметим лишь, что даже заготовленный цифровой материал может нуждаться в дополнительном отборе в целях сокращения объема, удаления неподходящих данных, проверки правильности и добросовестности полученных данных и подготовительных расчетов. Подобный отбор также производится исследователем целиком по его воле.

Существует много способов искусственного отбора; выбор того или иного способа зависит от цели отбора, от поставленной задачи. В самом общем плане способы отбора делятся на две группы: *пристрастные* и *репрезентативные* (см. гл. 16).

Пристрастными называются такие способы отбора, при которых отбираются элементы по какому-либо заранее намеченному признаку, при этом проверке подлежат все элементы совокупности, из которой делается отбор. Например, из совокупности чисел отбираются n самых больших или отбираются все числа, не достигающие нужной величины. Пристрастный отбор применяют и для того, чтобы изъять все наблюдения с нарушенными условиями испытания. Так, при идентификации линейной принадлежности животных, вычислении функций обобщенного Махаланобисова расстояния (см. гл. 33) морфологических параметров животных, не соответствующих неким заданным краниометрическим характеристикам, выделяют в отдельную группу и в дальнейшем не учитывают данные по больным и смешанно-породным особям. Пристрастный отбор является важной стадией экспери-

мента; его задача состоит обычно в том, чтобы устранить все заметные нарушения условий испытания. С помощью пристрастного отбора нередко удается ликвидировать те или иные доминирующие (несимметричные) факторы, нарушающие нормальность распределения.

Рассмотрим простой случай пристрастного отбора, например, при исследовании действия психотропных средств у крыс по методам УРПИ или УРАИ. Возникает вопрос о необходимости учета важнейших параметров, в частности теплового колебания и взаимодействия молекул в теле животного. Хотя взаимодействие исследуемых веществ, несомненно, происходит на молекулярном и даже атомарном уровне, необходимость учета этого фактора кажется странной. На самом деле, какова связь условно-рефлекторных реакций с термодинамическими молекулярными процессами?

Атомы колеблются вокруг положения равновесия с большими скоростями, но движение это хаотическое или, скорее, псевдохаотическое. Атомы и частицы, движущиеся в одну сторону, уравновешиваются атомами, летящими в другую. Но представим себе ситуацию, когда большинство атомов движется в одну сторону, не уравновешиваясь с другой стороны. Тогда УРПИ и УРАИ будут извращены по непонятной экспериментатору причине. Допустимо ли это? Теоретически – да, практически – сомнительно. Как же быть с учетом такого фактора? Но оставим это на совести пристрастного отбора исследователя.

Пристрастный отбор всегда является сознательным с ясной характеристикой данных, подлежащих отбору, поэтому он редко вызывает затруднения. Сложнее обстоит дело со второй группой случайных способов отбора, о которой речь пойдет в следующей главе.

Глава 16 СЛУЧАЙНЫЙ ОТБОР И ЧИСТОТА ЭКСПЕРИМЕНТА

Способы отбора называются *репрезентативными,* если отобранная группа элементов достаточно полно характеризует всю совокупность, из которой был сделан отбор. Разумеется, как бы ни был удачен отбор, в суждениях о всей совокупности будет *элемент случайности*. Более того, некоторые особенности всей совокупности вообще не отразятся на отобранной группе элементов, поэтому «репрезентативность» отбора, вообще говоря, является относительной и связана с конкретной числовой характеристикой совокупности, которая изучается с помощью отобранных элементов.

Репрезентативный отбор применяется тогда, когда судить о характеристиках совокупности, используя все ее элементы, невозможно либо слишком трудно из-за того, что эта совокупность чересчур велика, а возможно, и не вся доступна анализу. Если объем N этой совокупности очень велик, то его практически можно считать бесконечным. В этом случае заданную совокупность можно рассматривать как генеральную, а отобранные элементы как выборку, применяя в дальнейшем все достижения общего выборочного метода. Если же N не очень велико по сравнению с количеством n отобранных элементов (скажем, $N < 10\ n$), то с числом N нужно считаться при интерпретации результатов отбора.

Количество отбираемых элементов можно определить, если известна дисперсия σ^2 изучаемой характеристики (по каким-либо предыдущим дан-

ным). Это количество будет зависеть от той точности, с которой мы хотим получить значение характеристики. Если эта точность задана допустимой дисперсией s^2, то n определяется из формулы

$$S^2 = \frac{\sigma^2}{n}\left(\frac{N-n}{N-1}\right), \qquad (52)$$

которая при очень большом N преобразуется в известную нам уже формулу

$$S^2 = \frac{\sigma^2}{n}. \qquad (53)$$

Последнюю формулу легко объяснить: σ^2 есть как бы генеральная дисперсия, а s^2 есть дисперсия среднего выборки из n элементов, которая всегда в n раз меньше «одиночной» дисперсии.

Допустим, что нам известна дисперсия, связанная с неоднородностью вещества и равная $\sigma^2 = 0{,}20$. Допустим, что нам нужно знать содержание вещества с дисперсией s^2_1, не превосходящей 0,40, причем на методику анализа приходится дисперсия $s^2_2 = 0{,}35$ (ошибка воспроизводимости). Это значит, что на долю неоднородности допускается оставить дисперсию $s^2 \leq 0{,}05$. Если в нашем распоряжении $N = 50$ проб вещества, то необходимое число проб n определится из равенства

$$0{,}05 = \frac{0{,}20}{n}\left(\frac{50-n}{50-1}\right), \qquad (54)$$

то есть равно 5 (точное решение уравнения равно 40/9).

Выбор того или иного способа репрезентативного отбора зависит от степени наших знаний о всей совокупности. Если, например, нам известно, что элементы в совокупности расположены случайным образом, то можно применять *механический отбор* — отбирать каждый пятый или каждый десятый и так далее элемент. Если же в последовательности элементов имеется некоторая ритмичность, то нужно применять *аритмичный отбор,* например, в первой десятке брать первый элемент, во второй десятке — второй и т. д. Скажем, анализируя один раз в день качество продукции, мы не должны брать пробы в одно и то же время суток.

Иногда вся совокупность заведомо разбивается на отдельные части, которые желательно равномерно учесть. В этом случае применяют *типический отбор,* т. е. отдельно отбирают элементы из каждой части и лишь, потом сводят их в общую группу.

Так, анализируя виды или линии животных, мы должны изначально расчленить их на группы сообразно требованиям, заложенным при формулировании задач и целей эксперимента. При этом оправдана избыточность выборки каждой группы. Затем мы вправе в каждой выборке отобрать для эксперимента нужное число животных. В тех случаях, когда о всей совокупности ничего не известно, единственной гарантией репрезентативности может служить *случайный отбор.* Для того чтобы отбор был случайным, нужно все

элементы совокупности пронумеровать; номера отобранных элементов должны образовывать *случайную последовательность чисел.* Проверить случайность какой-нибудь последовательности чисел нетрудно хотя бы методом серий. Но здесь речь идет о том, чтобы *создать* случайную последовательность, собственной волей имитировать случай.

Имитация случая является весьма трудной задачей. Как бы мы ни старались, выписывая числа, делать их случайными, в них обязательно проявится (особенно при больших объемах) какой-то бессознательно выбранный план. Почти всегда можно узнать, как получена последовательность, «подделать» случайность трудно. Тем не менее, в очень многих исследованиях случайный отбор или случайное перемешивание или *рандомизация* данных настоятельно необходимы. Как же быть в таких ситуациях? На помощь случаю может прийти сам случай. Например, если нужно 10 мышей для эксперимента, то из клетки, содержащей 50 или 100 животных, можно их отобрать. Случайность вытянутых мышек будет полностью обеспечена. Однако стоит предостеречь экспериментатора: ведь те, которых легче поймать, менее подвижны и могут быть больны.

Можно воспользоваться и другим способом. Если взять, например, восьмизначные таблицы логарифмов (или синусов, тангенсов и т. п.), то последние три-четыре цифры в табличных числах будут абсолютно случайными. Возьмем подряд нужное количество двух-, трех- или четырехзначных чисел, составленных из этих последних цифр, и случайность выбора нам вновь будет гарантирована. Для удобства пользования, получаемые, таким образом *случайные числа* выписывают в виде специальных таблиц.

Пользоваться таблицей случайных чисел очень просто. Допустим, нужно отобрать 10 элементов из совокупности, содержащей 100 элементов. Пронумеруем все элементы от 00 до 99. Затем, начиная с любого места таблиц, возьмем две последние цифры десяти идущих подряд чисел. Получившиеся номера и покажут, какие элементы надо отобрать. Так, начиная с первого числа, мы получим номера: 82, 49, 18, 48, 09, 50, 17, 10, 37, 51... (повторяющиеся цифры надо опустить).

Выбранную последовательность случайных чисел в дальнейшем никоим образом нельзя изменять. Нужно помнить: именно случайность служит основой применения методов математической статистики, именно она обеспечивает репрезентативность отбора. Нарушение случайности, как правило, ведет к искажению результатов. Аналогично отбору производится случайное перемешивание элементов. При этом нужно выписывать случайные номера до тех пор, пока они не охватят все заданные элементы. Это и обеспечит *репрезентативность* искомой выборки.

Прежде чем приступить к выбору числа наблюдений или исследований, следует выполнить ряд процессуальных шагов. Законодательства, акты, инструкции или иные документы большинства стран мира предусматривают, что

каждое исследование должно проводиться в соответствии с утвержденным письменным протоколом, содержащим цель исследования и все методы его проведения. В протоколе должна быть отражена следующая информация:

- ✓ описательный заголовок и цель исследования;
- ✓ название, химическая формула и код тестируемых и контрольных субстанций;
- ✓ наименование заказчика и исполнителя эксперимента;
- ✓ информация о *статистических методах*, которые использованы при планировании эксперимента, и применении методов *рандомизации*;
- ✓ способ идентификации тестируемых животных (*пристрастный или типический отбор*);
- ✓ номер, вес, пол, вид, линия и возраст животного, а также источник его происхождения (вносятся по необходимости), а также количество животных в эксперименте и принципы их отбора (*комбинаторика, аритмичный, типический или случайный отбор*);
- ✓ план проведения эксперимента с указанием *пристрастного отбора* и описанием всех методов исключения оценки хода и результатов с предубеждением (*репрезентативность*);
- ✓ состав корма и растворителей, эмульгаторов и других материалов, используемых для получения растворов и суспензий для контроля субстанций. Описание должно содержать сведения о допустимых уровнях загрязнения корма, превышение которых способно повлиять на ход эксперимента и исказить его результаты (*метод исключения, пристрастный отбор*);
- ✓ дозировка тестируемой и контрольной субстанции, выраженная в миллиграммах на килограмм веса или иной форме, а также метод, путь и частота введения (*в системе СИ*);
- ✓ вид и периодичность анализов и замеров, используемый математический аппарат обработки данных (*статистические, дифференциальные, теория автоматического регулирования и другие методы*);
- ✓ требования к ведению письменного или иного учета и хранения информации;
- ✓ дата утверждения протокола заказчиком и дата и подпись руководителя исследований.

Пересмотр протокола и все, вносимые в него изменения, а также причины, послужившие этому, должны быть документально оформлены, датированы, подписаны руководителем исследования и приложены к протоколу. Количество животных, необходимых для эксперимента, зависит от целого ряда факторов: целей эксперимента, степени требуемой точности, ожидаемых различий последствий введения тестируемой субстанции, структуры и методов анализа результатов. Эти факторы также должны быть учтены в процессе планирования эксперимента, что требует участия в планировании специалиста в области статистики.

Глава 17 ПРЕДЕЛ И ДОСТАТОЧНОСТЬ ЧИСЛА НАБЛЮДЕНИЙ

Если для выявления результатов требуется сравнить две группы животных — подвергшихся воздействию и контрольных, то количество животных, необходимых для демонстрации действительных отличий, будет зависеть от предполагаемой степени этих отличий. Степень отличий иногда можно предположить исходя из результатов предыдущих экспериментов и, соответственно, определить *необходимое количество животных*. В случае если требуется большая точность, количество животных можно увеличить. Увеличение их количества целесообразно лишь до определенного уровня. Излишне большая выборка влечет за собой статистическую зависимость и искажение результатов.

Увеличение числа *параллельных* наблюдений n является основным способом повышения точности статистического анализа. Действительно, среднее выборки объема n имеет дисперсию в n раз меньше, чем одиночные наблюдения. Поэтому для определения необходимого числа наблюдений достаточно знать генеральную дисперсию наблюдений σ^2 и допустимую дисперсию результата s^2; при этом

$$n = \frac{\sigma^2}{s^2} . \qquad (55)$$

Увеличивая число параллельных наблюдений, можно неограниченно повышать точность найденного результата, лишь бы только в процессе наблюдений *не менялись условия* испытания. Именно этим

приемом пользуются, чтобы уменьшить доверительный интервал при неизменной доверительной вероятности.

Сложнее обстоит дело с выбором числа наблюдений при проверке гипотез. Это число должно одновременно служить двум целям: уменьшать вероятность α ошибки первого рода (*отклонение правильной гипотезы*) и вероятность β ошибки второго рода (*принятие неверной гипотезы*). Первая вероятность совпадает с принятым уровнем значимости p. Вторая вероятность зависит от многих факторов, и, в первую очередь, от того, насколько неверна принимаемая гипотеза. Поэтому под β понимают обычно наибольшую возможную вероятность ошибки второго рода при любых отклонениях от правильной гипотезы. Контроль ошибок второго рода является трудной задачей и требует специальных методов проверки гипотезы. Общий принцип такого контроля мы поясним на примере конкретной гипотезы.

Допустим, изучается нормально распределенная случайная величина ξ с дисперсией σ^2. Высказывается гипотеза, что генеральное среднее этой величины $\alpha \leq 0$ (односторонняя гипотеза). Требуется проверить эту гипотезу по одному наблюдению x. Если мы хотим, чтобы вероятность ошибки первого рода была не больше α, мы должны считать гипотезу неверной, только если $x > u_{1-\alpha}\sigma$, где $u_{1-\alpha}$ — квантиль стандартного нормального распределения. Действительно, с доверительной вероятностью $1 - \alpha$ справедлива односторонняя оценка

$$\alpha \geq x - u_{1-\alpha}\sigma, \tag{56}$$

которая позволяет утверждать, что $a > 0$ лишь при $x > u_{1-\alpha}\sigma$.

Если окажется, что $x \leq u_{1-\alpha}\sigma$, то мы будем вынуждены рассматриваемую гипотезу признать справедливой, хотя, возможно, допустим при этом ошибку второго рода. Вероятность неравенства $x \leq u_{1-\alpha}\sigma$ зависит от того, каким на самом деле является a. Если обозначить через $F(x)$ функцию нормального распределения со средним α и дисперсией σ^2, то

$$P\{x \leq u_{1-\alpha}\sigma\} = F(u_{1-\alpha}\sigma). \tag{57}$$

Используя функцию Лапласа, получим:

$$P\{x \leq u_{1-\alpha}\sigma\} = \frac{1}{2} + \Phi\left(\frac{u_{1-\alpha}\sigma - \alpha}{\sigma}\right) = \frac{1}{2} + \Phi\left(u_{1-\alpha}\sigma - \frac{\alpha}{\sigma}\right). \tag{58}$$

Если $\alpha > 0$, то принимаемая гипотеза неверна. Однако при этом α может быть сколько угодно близким к нулю, а это значит, что

$$\Phi\left(u_{1-\alpha}\sigma - \frac{\alpha}{\sigma}\right) \tag{59}$$

будет сколько угодно близко к

$$\Phi\left(u_{1-\alpha}\right) = \frac{1}{2} - \alpha \tag{60}$$

Иными словами, максимальная вероятность ошибки второго рода равна

$$\beta = \frac{1}{2} + \Phi(u_{i-\alpha}) = 1 - \alpha \; . \tag{61}$$

Например, при обычном уровне значимости $\alpha = 0{,}05$ будет $\beta = 0{,}95$, т. е. мы почти всегда ошибемся и примем *неверную гипотезу*.

Итак, желая застраховать себя от несправедливого отклонения верной гипотезы, мы впадаем в другую крайность, объявляя *правильными* почти сплошь *неверные гипотезы*. Точно такая же картина возникнет, если в качестве отправной точки взять фиксированную малую вероятность β. Для того чтобы вероятность принять неверную гипотезу не превышала β, мы должны будем отклонять гипотезу уже при $x > -u_{1-\beta}\sigma$. А это значит, что большой станет вероятность α, по-прежнему равная $1 - \beta$. Соотношение вероятностей α и β выражается площадями участков под нормальной кривой. Площадь, расположенная справа от критического значения, равна α, расположенная слева — равна β. Стараясь уменьшить α, мы сдвигаем это критическое значение вправо, стараясь уменьшить β — влево. Ясно, что с помощью единого критического значения невозможно даже сделать так, чтобы обе эти вероятности были меньше 1/2. На практике обычно вероятности ошибок обоих родов задаются заранее и являются малыми числами (не больше 0,1). В этом случае при проверке гипотезы приходится пользоваться *одновременно* двумя критическими значениями: считать гипотезу *верной*, если $x < -u_{1-\beta}\sigma$, и *неверной*, если $x > u_{1-\alpha}\sigma$. Такой подход обеспечивает заданный уровень вероятностей ошибок первого и второго рода, однако при этом появляется *участок неопределенности* $[-u_{1-\beta}\sigma, u_{1-\alpha}\sigma]$. Длина этого участка

$$\delta = (u_{1-\beta} + u_{1-\alpha})\,\sigma \tag{62}$$

называется *неопределенностью критерия*. Вопрос о том, какой вывод делать в случае, если x попадет на участок неопределенности, решается применительно к условиям задачи; чаще всего в этом случае гипотеза объявляется сомнительной и подвергается повторному анализу.

Неопределенность критерия сильно ухудшает эффект статистического анализа гипотез, поэтому ее всячески пытаются, если не устранить вообще (мы уже видели, что это невозможно), то, по крайней мере, сделать как можно меньше. Непосредственно из формулы (62) видно, что это можно сделать и при неизменённых заданных α и β, если уменьшать дисперсию σ^2. Уменьшать дисперсию можно, повышая точность методики. Но более универсальным и надежным средством является увеличение *числа параллельных наблюдений*.

Действительно, если вместо одиночного провести n параллельных наблюдений и рассмотреть их среднее x, то его дисперсия будет

$$\sigma \frac{2}{x} = \frac{\sigma^2}{n} \; .$$

Проверяя гипотезу по значению *x,* мы должны будем принять ее, если $x < -u_{1-\beta}\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$, и отвергнуть, если $x > -u_{1-\beta}\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$.

Неопределенность станет теперь равной

$$\delta = (u_{1-\beta} + u_{1-\alpha})\frac{\sigma}{\sqrt{n}}, \quad (63)$$

т. е. уменьшится в $\sqrt{n}$ раз.

В практических задачах допустимая неопределенность критерия задается обычно заранее, наряду с вероятностями α и β. Это позволяет сразу же определить необходимое число параллельных наблюдений:

$$n = (u_{1-\beta} + u_{1-\alpha})^2\left(\frac{\sigma}{\delta}\right)^2. \quad (64)$$

Как бы тщательно мы не изучали и использовали математические, и в частности, статистические методы, мы не должны упускать конечную цель - биологическое моделирование процесса, функции, эффекта в плане строгого переноса вновь полученных данных на прототип, т.е. на человека.

Обратимся в этом ключе к случаям планирования фармако-токсикологических экспериментов. Прежде чем осуществить конкретные исследования, необходимо осуществить доэкспериментальные мероприятия — от этого зависит корректность полученных результатов. Необходимо *весьма строго* подойти к выбору конкретных биологических моделей, их соответствию для исследования совершенно определенных субстанций, веществ или препаратов. Без такого подхода, выбранная биомодель может не только *не соответствовать прототипу*, но и заведомо извращать результаты экстраполяции.

Это особенно важно в случае использования биомоделей второго порядка т. е. при альтернативном моделировании. Удачный логический анализ в этом направлении осуществлен Г.Н. Красовским [386]. Во избежание ошибок при оценке генотоксичности и канцерогенности объектов окружающей среды, последствия которых для человека становятся негативными, должны быть представлены данные с показателями суммарной мутагенной активности. Следует учитывать, что существенный вклад в токсичность исследуемых субстанций могут вносить не сами исследуемые вещества, а содержащиеся в них примеси.

Очевидно, что в таких случаях прямая экстраполяция данных с биотестов на человека некорректна. Использование альтернативных моделей в токсикологических оценках должно основываться на параметрах стандартных уровней реагирования модельных объектов на индивидуальные вещества и содержащиеся в них примеси. Только в этом случае можно говорить о *допустимости прямой экстраполяции* полученных при биотестировании результатов на прототип. Рассмотрим этот подход в рамках вышеизложенных математических дефиниций.

Проанализируем ситуацию, когда в исследуемом на токсичность веществе присутствуют вредные примеси. К сожалению, мы сталкиваемся с такой ситуацией в большинстве случаев, поскольку 100%-ный уровень очистки невозможен, будь то продукты химического синтеза, генно-инженерные или рекомбинантные конструкции, вещества природного происхождения.

В Институте новых технологий РАМН нами был разработан принципиально иной подход к созданию 0,1%-ного нитроглицерина для инъекций. Субстанцию мы получали от крупного оборонного предприятия. Хотя все требования фармстатьи были соблюдены и выходной контроль подтверждал это, нас не удовлетворял желтоватый цвет (откуда ему было появиться?) субстанции и иные нюансы, которые здесь мы обсуждать не будем.

Поскольку мы создавали принципиально новую технологию получения нитроглицерина в глюкозе (в дальнейшем – в лактозе, галактозе и т.д.), а не на спиртовой основе, мы провели тщательный анализ всей технологической цепочки и поняли, что в процессе стерилизации автоклавированием, по-видимому, происходит окисление глюкозы, дающее примеси. Потребовались многие месяцы для перехода на фильтрационную стерилизацию, на новый техрегламент, согласование его с технологами, на новые доклинические и клинические испытания, согласование и утверждение в Минздраве, патентование [696]. Но этот труд стоил результата. В конечном итоге, нам удалось получить не «желтоватый», а свободный от примесей, т.е. более безопасный для человека, с меньшими побочными проявлениями чистый препарат, утвержденный в качестве новой ФСП в Российской Федерации.

На основе этого примера из нашей научно-производственной практики попытаемся формализовать этот процесс и представить его в более общем виде.

Зададим условие, при котором содержание побочного продукта не должно превышать 0,04%. Ошибка воспроизводимости одиночного анализа $\sigma = 0{,}002\%$. Требуется, чтобы вероятность наличия вредных примесей не превышала $\beta = 0{,}02$. Вместе с тем мы не должны исключать из эксперимента вещества, входящие в выборку с примесями до 0,04%. Если содержание примеси в субстанции «на пределе», какие-либо гарантии дать трудно. Но мы можем, например, потребовать, чтобы вероятность исключения веществ с содержанием примеси ниже 0,036% (считаем их соответствующими нашим требованиям) не превышала $\alpha = 0{,}05$. Нужно определить число параллельных анализов, которое позволило бы удовлетворить всем поставленным требованиям.

Чтобы использовать проведенные ранее теоретические рассуждения, будем в качестве случайной величины ξ рассматривать отклонение результата анализа примеси от заданного предела 0,04. Генеральное среднее α величины ξ даст истинное значение этого отклонения. Предположение «субстан-

ция пригодна» совпадает с гипотезой $\alpha \le 0$. Вероятности α и β заданы в явном виде, допустимую неопределенность критерия легко найти:

$$\delta = 0{,}04 - 0{,}036 = 0{,}004.$$

Отсюда

$$n = (u_{0,95} + u_{0,988})^2 \left(\frac{\sigma}{\delta}\right)^2 = (1{,}64 + 2{,}05)^2 \left(\frac{0{,}002}{0{,}004}\right)^2 = 3{,}42 \,, \quad (65)$$

т. е. для выполнения всех требований задачи нужно делать четыре параллельных анализа. Субстанция будет при этом признана безоговорочно годной, если среднее отклонение

$$x < -2{,}05 \frac{0{,}002}{\sqrt{4}} \approx -0{,}002 \,, \quad (66)$$

т. е. если по результатам четырех анализов содержание примеси (в среднем) окажется меньше 0,038%.

Если результат анализа будет больше чем 0,038%, то субстанция является или сомнительной (в пределах участка неопределенности), или неприемлемой. Обычно участок неопределенности присоединяют к участку неприемлемой субстанции, считая вещество непригодным всегда, как только результат анализа окажется больше 0,038%. Это связано с тем, что в процессе синтеза и очистки субстанции никогда не работают на пределе значений примесей. Вероятность получения готовой субстанции с содержанием примеси, близким к 0,04%, достаточно мала.

Описанная схема анализа предполагает, что число параллельных наблюдений n выбирается до токсикологического эксперимента и в процессе исследования не меняется. Однако, если бы первый же анализ примесей субстанции был $\le 0{,}02\%$, то токсикологические исследования можно было бы осуществлять как с совершенно «чистым» веществом. Иными словами, выбранное заранее n всегда достаточно для получения заданных вероятностей α и β, но отнюдь не всегда необходимо.

Излишних наблюдений можно избежать, поступая, например, следующим образом. Вначале делают одно наблюдение x_1 и сравнивают его с пределами $[u_{1-\beta}\sigma$ и $u_{1-\alpha}\sigma]$. Если это наблюдение будет меньше $[u_{1-\beta}\sigma]$, тогда гипотезу $\alpha \le 0$ можно сразу же принимать; если $x_1 > u_{1-\alpha}\sigma$, то гипотезу можно сразу отвергнуть. И только если x_1 попадает на участок неопределенности $[u_{1-\beta}\sigma, u_{1-\alpha}\sigma]$, нужно проводить второе наблюдение.

Сделав второе наблюдение x_2, находим среднее:

$$x_2 = \frac{x_1 + x_2}{2} \,. \quad (67)$$

Это среднее сравниваем с пределами $-u_{1-\beta}\frac{\sigma}{\sqrt{2}}$ и $u_{1-\alpha}\frac{\sigma}{\sqrt{2}}$.

Гипотеза может быть снова отвергнута или принята, и тогда наблюдения кончаются. Если же x_2 попадает на новый участок неопределенности

$$\left[-u_{1-\beta}\frac{\sigma}{\sqrt{2}}, u_{1-\alpha}\frac{\sigma}{\sqrt{2}}\right],$$

то делают третье наблюдение x_3, находят среднее

$$x_2 = \frac{x_1 + x_2 + x_3}{3} \tag{68}$$

и начинают новую проверку по пределам

$$-u_{1-\beta}\frac{\sigma}{\sqrt{3}} \quad \text{и} \quad u_{1-\alpha}\frac{\sigma}{\sqrt{3}}.$$

Процесс продолжается до тех пор, пока количество наблюдений не достигнет выбранного заранее по формуле числа n.

Ясно, что при таком способе проверки гипотезы число необходимых наблюдений будет в большинстве случаев значительно меньше первоначально выбранного n.

Разумеется, последовательное увеличение числа наблюдений неприемлемо там, где наблюдения проводятся заранее намеченными сериями и добавление новых наблюдений сопряжено с большими трудностями. Например, при исследовании в гистохимии или электронной микроскопии необходимое число снимков нужно определять заранее. В противном случае для каждого нового снимка или соседнего участка придется повторять весь процесс.

До сих пор во всех наших рассуждениях проверялась гипотеза $a \le 0$. Гипотеза $\alpha \ge 0$ проверяется аналогично, только теперь ее нужно принимать, если

$$x > u_{1-\beta}\frac{\Sigma}{\sqrt{n}} \tag{69}$$

Обе эти гипотезы односторонние и проверяются с помощью односторонних критериев.

Если же проверяется двусторонняя гипотеза $\alpha = 0$ (ни больше, ни меньше), то для проверки нужно применить двусторонний критерий. Пусть, попрежнему, вероятность отклонить верную гипотезу равна α, а вероятность принять гипотезу, в то время как на самом деле $\alpha \ge \delta$, равна β.

Тогда число наблюдений определится формулой

$$n = \left(u_{1-\frac{\alpha}{2}} + u_{1-\beta}\right)^2 \left(\frac{\sigma}{\delta}\right)^2 \tag{70}$$

и гипотеза признается справедливой только, если среднее x одновременно

удовлетворяет двум неравенствам:

$$-u_{1-\frac{\alpha}{2}}\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \le x \le u_{1-\frac{\alpha}{2}}\frac{\sigma}{\sqrt{n}} . \qquad (71)$$

Мы рассмотрели вопрос о выборе числа параллельных наблюдений, когда дисперсия наблюдений σ^2 известна заранее. Если же σ^2 заранее неизвестна, то для оценок нужно применять критерий Стьюдента. Выбор числа наблюдений n при этом более сложен и изложен в специальной литературе по математической статистике.

Важным открытием биологии конца XX века была разгадка генетического кода. Удалось выяснить, каким образом наследственная информация передается потомству. Поскольку информация записана в гигантских молекулах дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), то существенно, как различные молекулы ДНК отличаются друг от друга, в каком порядке идут в них 4 азотистых основания: аденин, тимин, гуанин и цитозин. Эти основания определяют порядок построения белков организма из двух десятков аминокислот, причем каждая аминокислота зашифрована кодом лишь из трех азотистых оснований, а не четырех.

Но откуда взялось число 3? Почему не 2 или 4? Ведь с помощью комбинаций двух оснований можно зашифровать лишь $4^2 = 16$ аминокислот, а этого недостаточно. Если же брать по 3 основания, то получим $4^3 = 64$ комбинации. А этого с избытком хватит, чтобы зашифровать два десятка. Было бы весьма интересно узнать, как используется в природе избыточность информации — ведь число комбинаций равно 64, а число аминокислот втрое меньше. Природа предусматривает достаточность резервирования, но отнюдь не избыточность — она рачительная, но и экономная хозяйка.

Так, в одной хромосоме содержится несколько десятков миллионов азотистых оснований. Число различных комбинаций, в которых они могут идти друг за другом, невообразимо велико. Ничтожной доли этих комбинаций достаточно, чтобы обеспечить все разнообразие живой природы за время существования жизни на Земле. Разумеется, надо иметь в виду, что лишь ничтожная доля теоретически возможных комбинаций приводит к жизнеспособным организмам. Оно равно 4^N, где N — число оснований в хромосоме.

При решении многих комбинаторных задач целесообразно воспользоваться методом сведения к аналогичной задаче для меньшего числа предметов, или *методом рекуррентных соотношений (*от латинского *recurrere* — возвращаться), который позволяет свести задачу об n предметах к задаче об $n — 1$ предметах, потом к задаче об $n — 2$ предметах и т. д. Последовательно уменьшая число предметов, доходим до задачи, которую уже легко решить. Во многих случаях удается получить из рекуррентного соотношения явную формулу для решения комбинаторной задачи.

В 1202 году итальянский математик Фибоначчи среди многих других задач привел следующую: пара кроликов приносит раз в месяц приплод из двух крольчат (самки и самца), причем новорожденные крольчата через два месяца после рождения тоже приносят приплод. Сколько кроликов появится через год, если в начале года была одна пара кроликов?

Из условия задачи следует, что через месяц будет две пары кроликов. Через два месяца приплод даст только первая пара кроликов, и получится 3 пары, а еще через месяц приплод дадут и исходная пара кроликов, и пара кроликов, появившаяся два месяца тому назад. Поэтому всего будет 5 пар кроликов.

Обозначим через $F(n)$ количество пар кроликов по истечении n месяцев с начала года. Мы видим, что через n + 1 месяцев будут эти $F(n)$ пар и еще столько новорожденных пар кроликов, сколько было в конце месяца $n - 1$, то есть еще $F(n - 1)$ пар кроликов. Иными словами, имеет место рекуррентное соотношение

$$F(n + 1) = F(n) + F(n - 1) \tag{72}$$

Так как по условию, $F(0) = 4$ и $F(1) = 2$, то последовательно находим

$$F(2) = 3,\ F\ (3) = 5,\ F(4) = 8, \text{ и т.д.,в частности } F(12) = 377.$$

Числа $F(n)$ называют *числами Фибоначчи*. Они обладают целым рядом свойств. Выведем выражение этих чисел через $C^k{}_m$. Для этого установим связь между числами Фибоначчи и следующей комбинаторной задачей. Найти число n-последовательностей, состоящих из нулей и единиц, в которых никакие две единицы не идут подряд.

Чтобы установить эту связь, возьмем любую такую последовательность и сопоставим ей пару кроликов по следующему правилу: единицам соответствуют месяцы появления на свет одной из пар «предков» данной пары (включая и исходную), а нулями — все остальные месяцы. Например, последовательность 010010100010 устанавливает такую «генеалогию» — сама пара появилась в конце 11-го месяца, ее родители — в конце 7-го месяца, «дед» — в конце 5-го месяца и «прадед» — в конце второго месяца. Исходная пара кроликов зашифровывается при этом последовательностью 000000000000.

Ясно, что при этом ни в одной последовательности не могут стоять две единицы подряд — только что появившаяся пара не может, по условию, принести приплод через месяц. Кроме того, при указанном правиле различным последовательностям отвечают различные пары кроликов, и обратно, две различные пары кроликов всегда имеют разную «генеалогию», так как, по условию, крольчиха дает приплод, состоящий только из одной пары кроликов.

Установленная связь показывает, что число n-последовательностей, обладающих указанным свойством, равно $F(n)$.

Докажем теперь, что

$$F(n) = C^0{}_{n+1} + C^1{}_n + C^2{}_{n-1} + ... + C^p{}_{n-p+1}\ , \tag{73}$$

где $p = (n + 1)/2$, если n нечетно, и $p = n/2$ если n четно.

Иными словами, p — целая часть числа $(n + 1)/2$ (в дальнейшем мы будем обозначать целую часть числа α через $E(\alpha)$), таким образом,

$$p = E(n + 1)/2. \tag{74}$$

В самом деле, $F(n)$ — это число всех n-последовательностей из 0 и 1, в которых никакие две единицы не стоят рядом. Число же таких последовательностей, в которые входит ровно k единиц и $n - k$ нулей, равно $C^k{}_{n-k+1}$. Так как при этом должно выполняться неравенство $k \leq n - k + 1$, то k изменяется от 0 до $E(n+1)/2$. Применяя правило суммы, мы вновь приходим к соотношению (74).

Таким образом, правильное использование статистических приемов и математических методов в планировании эксперимента, анализе результатов и формулировании результатов научных исследований имеет наиважнейшее значение. Статистика является *базовым приемом* для определения соотношения единичного экспериментального образца и определенной популяции. Она является инструментом, позволяющим исследователю определить, какое количество изменений следует отнести на долю случая, а какое вызвано определенным воздействием в целях эксперимента. Надлежащее использование статистических методов позволяет определить количество животных, необходимых для эксперимента, способствуя, таким образом, их экономии. В нашем случае статистические приемы позволяют спланировать, выполнить исследования, построить модель и осуществить корректный экстраполяционный перенос новых данных на прототип, т. е. на человека

Глава 18 АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ: РАЗДЕЛЯЙ И ДЕЙСТВУЙ

Интерпретация результатов для некоторых экспериментов может заключаться в описании, а для других в аналитическом сравнении различных видов полученного лечения или воздействия субстанции в двух или нескольких различных группах. Как выше отмечалось, эксперименты можно разделить на два вида: подтверждающие и исследующие. В *подтверждающих* экспериментах делается попытка ответить на заранее поставленные вопросы. В *исследующих* экспериментах описывается исходное состояние и формулируются гипотезы для дальнейшей проверки и построения модели.

Для *подтверждающих* экспериментов используются различные статистические тесты. Эти тесты основаны на гипотезе нулевого эффекта, то есть предполагается, что оказанное воздействие не дало никакого эффекта. Также предполагается естественное отличие тестовой и контрольной групп, но если было найдено отличие, которое нельзя считать естественным или случайным, считается, что их вызвало причиненное воздействие.

В *исследующих* экспериментах также используется статистика, но не в целях определения значимых отличий последствий воздействия. Статистические приемы в этих экспериментах скорее используются для математической оценки, описания результата воздействия на определенную популяцию или математического моделирования.

Последовательный анализ

В предыдущей главе приводились соображения, показывающие, что число наблюдений можно сократить, если по ходу анализа учитывать уже сделанные наблюдения. Обобщением этой идеи служит разработанный Вальдом метод *последовательного анализа.* При этом методе после каждого нового наблюдения решают, принять гипотезу, отклонить или продолжать испытания. Последовательный анализ *позволяет сокращать* число необходимых наблюдений в среднем в два-три раза по сравнению с обычными методами, фиксирующими число наблюдений заранее.

Сейчас последовательный анализ — это уже обширная теория. Мы рассмотрим его только в применении к анализу генерального среднего α наблюдаемой случайной величины.

Допустим, что нам нужно сделать выбор между гипотезами $\alpha \leq \alpha_1$ и $\alpha \geq \alpha_2$ (предполагается, что $\alpha_1 < \alpha_2$). Вероятность принять гипотезу $\alpha \geq \alpha_2$, когда в действительности $\alpha \leq \alpha_1$, обозначим через α. Вероятность противоположной ошибки, т. е. принятия гипотезы $\alpha \leq \alpha_1$, когда в действительности $\alpha \geq \alpha_2$, обозначим через β.Числа α и β обычно малы и задаются заранее.

Основная идея последовательного анализа заключается в следующем. При каждой совокупности наблюдений $x_1, x_2, ..., x_n$ мы можем найти вероятность p_n' того, что эти наблюдения получены из совокупности с генеральным средним α_1', и вероятность p_n'' того, что они получены из совокупности с генеральным средним α_2. Согласно принципу максимума правдоподобия на практике осуществляются события с максимальной вероятностью. Это значит, что при $p_n' > p_n''$ нужно считать более правдоподобным значение $\alpha = \alpha_1$ (а с ним и всю гипотезу $\alpha \leq \alpha_1$). Если же $p_n'' > p_n'$, то предпочтение нужно отдать второй гипотезе $\alpha \geq \alpha_2$. Итак, все решается *отношением правдоподобия* p_n''/p_n'.

Существенно важно, будет ли оно больше или меньше единицы. Ясно, однако, что в случае, когда отношение правдоподобия лишь немного отличается от единицы, предпочтение соответствующей гипотезе будет весьма сомнительным, и лучше всего продолжить испытания. Точные показатели, насколько должно отношение правдоподобия отличаться от единицы, чтобы между гипотезами можно было сделать уверенный выбор, определяются заданными вероятностями α и β. Вальд показал, что гипотезу $\alpha \leq \alpha_1$ можно принять, если

$$\frac{p_n''}{p_n'} \leq \frac{\beta}{1-\alpha'}, \quad (75)$$

и гипотезу $\alpha \geq \alpha_2$ можно принять, если

$$\frac{p_n''}{p_n'} \geq \frac{1-\beta}{\alpha}. \quad (76)$$

Если же

$$\frac{\beta}{1-\alpha} < \frac{p''_n}{p'_n} < \frac{1-\beta}{\alpha}\ , \qquad (77)$$

то испытания надо продолжать.

При каждом новом наблюдении границы для отношения правдоподобия не меняются, меняется лишь само отношение. Это облегчает применение последовательного анализа, позволяет свести его к простым алгоритмам.

Если наблюдаемая случайная величина имеет нормальное распределение с заранее известной дисперсией σ^2, то условие продолжения испытаний можно преобразовать к виду

$$A_1 + bn < \sum x_i < A_2 + bn, \qquad (78)$$

где

$$A_1 = 2{,}3\frac{\sigma^2}{\alpha_2 - \alpha_1}\lg\frac{\beta}{1-\alpha},\quad A_2 = 2{,}3\frac{\sigma^2}{\alpha_2 - \alpha_1}\lg\frac{1-\beta}{\alpha}, b = \frac{\alpha_1 + \alpha_2}{2}\ . \qquad (79)$$

Числа A_1, A_2 и b подсчитываются сразу же по исходным данным, благодаря чему дальнейшая проверка ведется только по сумме проделанных наблюдений и их числу.

Последовательный анализ нормально распределенной случайной величины особенно удобно проводить геометрически. Для этого после каждого наблюдения строят точку на координатной плоскости, откладывая по оси абсцисс число проделанных наблюдений *n*, а по оси ординат их сумму $\sum x_i$. Испытания нужно продолжать, пока эти точки будут находиться в полосе между прямыми $y = A_1 + bn$ и $y = A_2 + bn$ (рис. 3). Если же хоть одна точка окажется ниже этой полосы, анализ нужно прекращать и принимать гипотезу $\alpha \le \alpha_1$. Точно так же гипотеза $\alpha \ge \alpha_2$ принимается, как только хоть одна точка окажется выше указанной полосы.

Рассмотрим следующий пример. Необходимо построить эксперимент по отбору животных (в нашей лаборатории это осуществляется на крысах Wistar) с целью получения гибридов первого поколения, устойчивых к гипоксии. Зададим условие, что число слабо устойчивых к гипоксии не должно превышать 60%. В связи с естественной дисперсией и генетической неоднородностью групп животных возникает средняя квадратичная ошибка результатов, известная по большому числу предыдущих анализов и равная $\sigma = 0{,}24\%$. Чтобы гарантировать добротность, требуется отбраковать животных, имеющих низкую устойчивость к гипоксии и попадающих в выборку, превышающую 60%, с вероятностью не меньшей 0,95. В то же время нельзя отбраковывать животных, составляющих выборку, превышающую 40%. Поэтому ставится еще одно требование — животные, попадающие в выборку не более чем на 58%, принимать с вероятностью 0,90.

Покажем, как для контроля устойчивых к гипоксии животных применять последовательный анализ. В поставленных условиях $\alpha_1 = 58$, $\beta_2 = 60$.

Допустимые вероятности ошибок: $\alpha = 1 - 0,90 = 0,10$ и $\beta = 1 - 0,95 = 0,05$. Непосредственно вычисляем

$$A_1 = 2,3\frac{0,24^2}{0,20}\lg\frac{0,05}{0,90} = -8,31 \ , \tag{80}$$

$$A_2 = 2,3\frac{0,24^2}{0,20}\lg\frac{0,05}{0,10} = 13,10 \ , \tag{81}$$

$$b = \frac{5,8+6,0}{2} = 5,9 \ . \tag{82}$$

Область продолжения анализов будет ограничена прямыми

$$y = -8,31 + 5,9n \text{ и } y = 13,10 + 5,9n \ , \tag{83}$$

которые построены на рис. 3. Анализ первой выборки животных дал результат 42%. Пусть ему соответствует на рис. 4 точка M_1 с абсциссой $n = 1$ и ординатой $y = 4,2$. Результаты исследований данной выборки (обозначим её точкой M_1) находится в статистической области «продолжения испытаний», поэтому берем вторую выборку. Её анализ дал результат 39%, что соответствует условной точке M_2 с абсциссой $n = 2$ и ординатой $y = 4,2 + 3,9 = 8,1$. Испытания снова нужно продолжать. Третий анализ дал значение 36%; ему соответствует некая точка M_3 с абсциссой $n = 3$ и ординатой $y = 8,1 + 3,6 = 11,7$. Четвертому анализу с результатом 40% соответствовала бы точка M_4 ($n = 4$, $y = 15,7$). Наконец, пятая точка M_5, соответствующая еще одному анализу с результатом 44%, получает координаты $n = 5$, $y = 15,7 + 4,4 = 20,1$, и выходит за пределы «полосы M_4 продолжения испытаний» в ожидаемом нами направлении. Данную выборку животных можно считать соответствующей требованиям устойчивости к гипоксии (рис. 4).

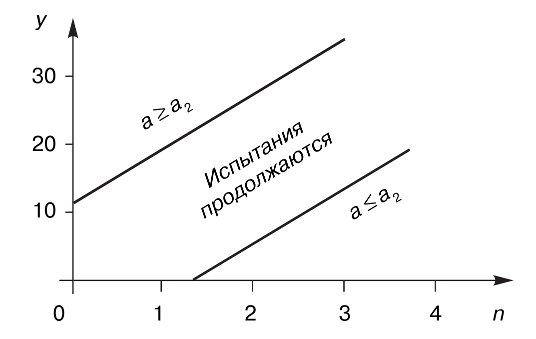


Рис. 3. Координатная плоскость и оси, определяющие проведенные эксперименты, иллюстрирующие, что в этих исследованиях нет животных, устойчивых к гипоксии

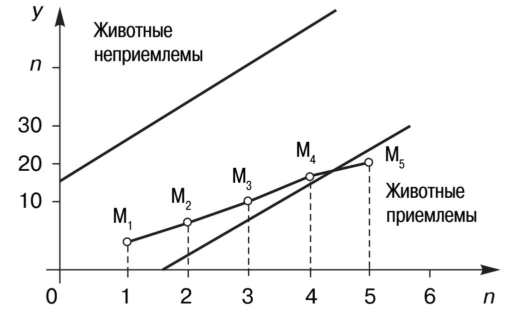


Рис. 4. Точка M_5 выходит за пределы необходимости продолжения испытаний, иллюстрирующие наличие животных, устойчивых к гипоксии

Может показаться, что устойчивость к гипоксии видна уже из пер-

вого анализа. К сожалению, такой вывод поспешен, так как из-за высокого значения σ мы не можем гарантировать заданные вероятности ошибок α и β.

Для решения поставленной задачи с помощью метода последовательного анализа нам понадобилось пять наблюдений. Если же мы захотим определить число наблюдений n заранее по формулам предыдущего пункта, то мы получим:

$$n = (u_{0,90} + u_{0,95})^2 \left(\frac{\sigma}{\alpha_2 - \alpha_1} \right)(1{,}28 + 1{,}65)^2 \left(\frac{0{,}24}{0{,}20} \right)^2 \approx 13 \, , \qquad (84)$$

т. е. классический метод потребовал бы 13 серий экспериментов. В то время как при планировании и использовании математического аппарата Вальда, т.е. последовательного анализа мы получаем репрезентативную выборку и корректный результат уже при пяти сериях. Преимущества планирования и оптимизации эксперимента и последовательного анализа неоспоримы.

Принятие решений

Как бы тщательно не был осуществлен анализ и дана интерпретация результатов экспериментов, перед исследователем стоит задача принятия решения. Под понятием «принятие решения» подразумевается применение математических и количественных методов для обоснования решений. Оно включает в себя: постановку задачи; построение математической модели; нахождение метода решения; проверку и корректировку модели; реализацию найденного решения в виде нахождения экстраполяционных параметров переноса с биомодели на прототип (человека или животного).

Построение математической модели осуществляется на основе достаточно строгой, логически непротиворечивой, содержательной постановки задачи. Этот процесс называется формализацией задачи.

В том случае, когда все действующие в эксперименте факторы определены и достоверны, а случайные воздействия отсутствуют, мы сталкиваемся с ситуацией *принятия решений в условиях определённости*. Например, необходимо испытать активность нового жаропонижающего средства при экспериментальной гиперэргии. Результат исследования даст абсолютно однозначный ответ о наличии эффекта. Более того, исследователь получит однозначные количественные показатели этого действия, выраженные в градусах Цельсия. Естественно, что решение о результатах отвечает условиям определенности.

Если же мы находимся в ситуации, в которой результаты экспериментов не дают однозначного ответа, а относятся к одному из множества возможных откликов с разными вероятностями их осуществления, а исход конкретной реализации случаен и непредсказуем, метод называют *принятием решений в условиях риска*. Например, эксперимент в полном развитии, а под окном рабочие затеяли рубить асфальт.

В тех случаях, когда результаты экспериментов зависят от непредсказуемых факторов, такая задача, называется *принятием решений в условиях неопределённости*. Например, требуется выдать заключение о радиопротекторном действии препарата в условиях комплексного воздействия радиационных, акустических и электромагнитных факторов. Чтобы исключить явления неопределенности, необходимо исследовать протекторные свойства каждого из факторов, их попарного воздействия и комплексного влияния. Это требует огромного количества экспериментов и достаточно сложного математического анализа. Экспериментатор *вправе*, без дополнительных исследований, *принять решение* в условиях неопределенности. Иными словами, если нет полной информации, то остаётся либо предполагать, либо строить догадки. Поэтому в формулировке таких задач следует делать оговорку «по возможности», «по-видимому», «вероятно».

В процессе принятия решений можно выделить несколько этапов:

✓ определить основные и альтернативные способы действия, адекватный набор целей и установить *нормы и пределы* искомых результатов;

✓ условия неопределённости, связанные с альтернативными решениями, должны быть выражены через *распределение вероятностей*, желательно численно;

✓ искомые результаты должны быть представлены через *ранжирование предпочтений* в числовой форме;

✓ рациональный синтез информации должен быть осуществлен таким образом, чтобы можно было построить *общую модель принятия решений*.

Многие исследователи и специалисты в области исследования операций и теорий принятия решений руководствуются принципом «разделяй и действуй», иными словами, необходимо любую анализируемую ситуацию разделить на части, а затем действовать в соответствии с указанными этапами, т.е. каждую часть анализировать отдельно. Только после этого можно построить общую модель для принятия решений.

Некоторые, не лишенные чувства юмора специалисты определяют процессы принятия решений и исследования операций, как искусство давать плохие ответы на те научные вопросы, которые при других подходах являются ещё худшими. Но если говорить серьезно, то решение, принятое в условиях неопределённости, но на основании математических расчётов, будет лучше, чем *взятое наугад* первое попавшееся или, которое некоторые исследователи не без юмора называют эвристическим или интуитивным.